УДК 575.113:639.3.043

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА ПЕРЕБІГУ ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА ТА ЙОГО ГІБРИДНИХ ГРУП

І.А.Особа, *молодший науковий співробітник, аспірант*
С.І.Тарасюк, *член-кореспондент УААН, доктор сільськогосподарських наук*
І.І.Гриciняк, *кандидат сільськогосподарських наук*
Інститут рибного господарства УААН, м. Київ

Наведено дані про активність ферментів системи антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансферази та вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів, зокрема гідроперекисів ліпідів, дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду у плазмі крові та суспензії еритроцитів коропа та його гібридних груп. Показано відмінність активності ферментів системи антиоксидантного захисту у досліджуваних зразках, її залежність від виду риб і специфічність щодо кожного фермента окремо, а також рівень процесів перекисного окислення ліпідів.

Вступ. В організмі риб постійно протікають аеробні процеси, зокрема окислення енергетичних субстратів, внаслідок чого утворюються активні форми кисню (АФК) та інші вільні радикали (ВР) [1]. Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) належить до нормальних фізіологічних процесів, які необхідні для здійснення фагоцитозу, сперматогенезу, піноцитозу, регуляції проникності мембран та багатьох інших процесів в організмі. Проте зростання і нагромадження АФК та продуктів ПОЛ може призводити до руйнування внутрішньоклітинних структур. Продукти вільно-радикального перекисного окислення (ВРПО) можуть виступати своєрідними біомаркерами ушкодження тканин, оскільки за їх рівнем можна судити про інтенсивність протікання ВРПО у різних біологічних системах організму. Найбільш важливими біомаркерами можуть виступати продукти окислення поліненасичених жирних кислот, зокрема малоновий діальдегід, гідроперекиси ліпідів та ряд ін-

ших продуктів ПОЛ. Кожна група продуктів характеризує інтенсивність ВРПО, а також ступінь ушкодження ліпідів, амінокислот, нуклеїнових кислот і т. д. Все це може спричинити модифікацію білків і ферментів, зміну їх активності, зміну фосфоліпідного складу мембран, зміну конформації ліпідів і білків, а звідси – структурних і функціональних властивостей мембран [2, 3]. Такі ж явища спостерігаються і в структурі ДНК уражених клітин. Вільні радикали можуть взаємодіяти як безпосередньо з азотистими основами ДНК, утворюючи при цьому їх модифіковані похідні, так і опосередковано, через вторинні та кінцеві продукти перекисного окислення ліпідів, які, зв'язуючись з ДНК та білками ядерного хроматину, здатні викликати спотворення процесів зчитування генетичної інформації [4].

Інтенсивність протікання вільно радикального перекисного окислення в організмі залежить від концентрації кисню в тканинах, а також від ферментних і неферментних систем. У нормально функціонуючих системах прояву пошкоджуючої дії вільних радикалів і перекисних сполук запобігає система антиоксидантного захисту організму, яка тонко регламентує реакції перекисного окислення ліпідів у клітинних структурах. Систему антиоксидантного захисту організму умовно поділяють на ферментативну та неферментативну ланки. Першу складають антиоксидантні ферменти: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатіонпероксидаза (ГП), глутатіон-S-трансфераза (Г-S-Т) тощо, до другої входять вітаміни А, Е, С, каротиноїди та ряд інших сполук.

На даний час дослідженню стану системи антиоксидантного захисту та протіканню вільно-радикального перекисного окислення у тканинах риб приділяють все більше уваги, використовуючи показники активності ферментів АОЗ та вмісту ВР у гідробіонтів як критерії якості водного середовища та у багатьох інших аспектах [5].

Метою даної роботи було провести порівняльну характеристику стану системи антиоксидантного захисту організму

та інтенсивності перебігу вільно радикального перекисного окислення у плазмі крові та суспензії еритроцитів у внутрішньопородних груп українського коропа та його гібридних груп.

Методика досліджень. Дослідження проводили на групах коропів та їх гібридів, які вирощувалися у ставах Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства УААН (с.м.т. Великий Любінь). Дослідні групи налічували по шість особин у кожній. До першої групи входили особини коропосазанового гібриду (КСГ), другу групу складав любінський рамчатий короп (ЛРК), третю – помісний рамчатий короп (ПРК; галиційський короп х любінський короп), четверту групу складали особини амурського сазана (АС).

Стан системи антиоксидантного захисту організму вивчали на підставі визначення активності супероксиддисмутази (КФ1.15.1.1.), глутатіонпероксидази (КФ1.11.1.9.) та глутатіон-S-трансферази (КФ2.5.1.18.), інтенсивність перебігу процесів вільно-радикального перекисного окислення – за вмістом його продуктів, зокрема гідроперекисів ліпідів (ГПЛ), дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА).

Кров відбирали піпетками Пастера з серця у центрифужні пробірки типу "Eppendorf" із гепарином у розрахунку 25 МО на 1 мл крові. Кров розділяли на плазму та еритроцити шляхом центрифугування. Визначення активності ферментів та вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів проводили спектрофотометрично за загальноприйнятими методиками [6-10]. Одержані цифрові дані опрацьовані статистично.

Результати досліджень. Антиоксидантна система захисту організму контролює всі етапи вільно-радикальних реакцій, починаючи від їх ініціації і закінчуючи утворенням продуктів ПОЛ, механізм контролю яких пов'язаний з ланцюгом оборотних окисно-відновних реакцій іонів металів, глутатіону, токоферолу та інших речовин.

Нами було проведено дослідження групи ферментів АОЗ організму, зокрема супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансферази. Супероксиддисмутаза є од-

ним з ключових ферментів антирадикального захисту, оскільки вона дисмутує супероксидрадикал до менш токсичного перекису водню. Важливу роль у знешкодженні продуктів вільно радикального окислення відіграють також ферменти глутатіонового циклу. Так, глутатіонпероксидаза каталізує розклад гідроперекисів ліпідів нерадикальним шляхом за допомогою глутатіону відновленого, а глутатіонтрансфераза є одним з найважливіших компонентів системи детоксикації токсичних метаболітів та ксенобіотиків.

Проведені дослідження, результати яких представлено у таблиці 1, показали, що активність ферментів у досліджуваних зразках значно відрізняється між собою залежно від виду риб і є специфічною щодо кожного ферменту окремо. Зокрема, активність супероксиддисмутази у плазмі крові зростала у наступному порядку досліджуваних груп риб: **АС → ПРК → ЛРК → КСГ**. Теж саме спостерігається і при визначенні глутатіонпероксидази. Щодо суспензії еритроцитів, то тут ці ж показники зростають у дещо іншому порядку: **АС → ЛРК → ПРК → КСГ**. Зміна активності глутатіон-S-трансферази у досліджуваних зразках відрізнялася від вище згадуваних ферментів. Проте, як і супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази, найвищим її рівень у плазмі спостерігався у коропо-сазановаого гібриду (0,0050±0,0005), а найнижчим – у амурського сазана (0,0035±0,0004), а у суспензії еритроцитів найвища активність її була у коропо-сазанового гібриду (0,063±0,0050), а найнижча – у люблінського рамчатого коропа (0,036±0,001). Отримані результати підтверджують тканиноспецифічність і внутрішньовидові відмінності активності ключових ферментів антиоксидантного захисту, що, на нашу думку, може бути пов'язано з генотиповими характеристиками піддослідних риб. Тому особливої актуальності набуває питання вивчення асоціацій генетично детермінованого поліморфізму білків з відомою біохімічною функцією, у даному випадку з окремими ланками антиоксидантного захисту організму, який у поєднанні з новими методами генетичного

аналізу дасть змогу оцінити систему антиоксидантного захисту генофонду та виявити унікальні генетичні характеристики внутрішньопородних та гібридних груп українського коропа.

Таблиця 1

Активність ферментів системи антиоксидантного захисту в організмі коропа та його гібридних груп (X±Sx, n=6)

Дослідні групи	Плазма крові			Суспензія еритроцитів		
	СОД, у.о./мг білку	ГП, нмоль NADPH/хв. х мг білку	Г-S-Т, нмоль NADPH/хв. х мг білку	СОД, у.о./мг білку	ГП, нмоль NADPH/хв. х мг білку	Г-S-Т, нмоль NADPH/хв. х мг білку
КСГ	5,00 ± 0,05	0,115 ± 0,0025	0,0050 ± 0,0005	8,00 ± 0,01	0,0080 ± 0,0003	0,063 ± 0,0050
ЛРК	4,50 ± 0,015	0,085 ± 0,001	0,0040 ± 0,0005	6,50 ± 0,015	0,0060 ± 0,0005	0,036 ± 0,001
ПРК	4,00 ± 0,03	0,076 ± 0,001	0,0045 ±0,0003	7,00 ± 0,01	0,0075 ± 0,0004	0,037 ± 0,004
АС	3,50 ± 0,05	0,070 ± 0,003	0,0035 ± 0,0004	5,50 ± 0,04	0,0050 ± 0,0005	0,040 ± 0,003

Рівень процесів перекисного окислення ліпідів у досліджуваних зразках оцінювали за вмістом продуктів ВРПО. Отримані результати (таблиця 2), свідчать про те, що вміст продуктів ПОЛ у плазмі та суспензії еритроцитів, як і наведені вище показники активності ферментів, відрізняється тканинною специфічністю, а також за видовою приналежністю. Дослідження показали, що рівень основних продуктів перекисного окислення ліпідів у плазмі крові найвищим є у амурського сазана та любінського рамчатого коропа за всіма наведеними показниками і знижується у гібридних груп коропа.

Висновки. Отримані результати показали, що активність ферментів у досліджуваних зразках значно відрізняється між собою залежно від породної групи риб і є специфічною по відношенню до кожного ферменту окремо.

Результати досліджень підтверджують тканиноспецифічність активності ферментів антиоксидантного захисту піддо-

слідних риб, що, можливо, пов'язано з факторами антропогенного тиску, а саме — факторами штучного добору.

Таблиця 2

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів в організмі коропа та його гібридних груп (X±Sx, n=6)

Дослідні групи	Плазма крові			Суспензія еритроцитів		
	ГПЛ, у.о./мг білку	ДК, у.о./мг білку	МДА, у.о./мг білку	ГПЛ, у.о./мг білку	ДК, у.о./мг білку	МДА, у.о./мг білку
КСГ	0,070 ± 0,0009	0,040 ± 0,003	0,350 ± 0,001	0,005 ± 0,0004	0,014 ± 0,0009	0,280 ± 0,001
ЛРК	0,080 ± 0,0009	0,050 ± 0,001	0,550 ± 0,001	0,005 ± 0,0005	0,015 ± 0,0009	0,350 ± 0,004
ПРК	0,075 ± 0,0005	0,045 ± 0,0001	0,400 ± 0,003	0,006 ± 0,0007	0,019 ± 0,001	0,300 ± 0,003
АС	0,085 ± 0,001	0,055 ± 0,0025	0,600 ± 0,005	0,0075 ± 0,0008	0,020 ± 0,001	0,403 ± 0,005

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів у плазмі крові та суспензії еритроцитів, як і наведені вище показники активності ферментів, відрізняється тканинною специфічністю, а також за видовою приналежністю.

Перспективи подальших досліджень. Проведені дослідження зможуть найти свій розвиток у вивченні імунного стану популяцій риб різних видів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Winston G. W. Oxidant and antioxidant in aquatic animals / G. W. Winston // Comp. Biochem. Phisiol. C. — 1991. — V. 100, № 1-2. — P. 173—176.

2. Арчаков А. И. Микросомальное окисление / А. И. Арчаков. — М. : Наука, 1975. — 327 с.

3. Владимиров Ю. А. Перекисне окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. — М. : Наука, 1972. — 252 с.

4. Левицкий Е. Л., Губский Ю.И. // Укр. биохим. журн.— 1994. — № 4. — С. 18—30.

5. Шахматова О. А. Активность антиоксидантной системы личинок рыб как показатель качества морской среды / О. А. Шахматова // Экология моря. — 2001. — Вып. 59. — С. 48—50.

6. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / Стальная И.Д. //Современные методы в биохимии.–М.: Медицина, 1977.–С.63.